

Aus dem Pathologischen Institut des Städtischen Rudolf-
Virchow-Krankenhauses, Berlin 65

Dirig. Arzt: Professor Dr. med. Friedrich S t e i n

Experimenteller Beitrag zur Verwendung
von DMSO in der histologischen Technik

Inaugural- Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Karin Neumann, geb. Bastian

Frankfurt/Main

1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pathologischen Institut des Städtischen Rudolf-
Virchow-Krankenhauses, Berlin 65

Dirig. Arzt: Professor Dr. med. Friedrich S t e i n

Experimenteller Beitrag zur Verwendung
von DMSO in der histologischen Technik

Inaugural- Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Karin Neumann, geb. Bastian

Frankfurt/Main

Dekan: Professor Dr. med. Hans Wolfgang S p i e r

Referent: Professor Dr. med. Friedrich S t e i n

Korreferent: Professor Dr. med. Hans Wolfgang S p i e r

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 5. September 1968

Inhaltsübersicht

I. EINLEITUNG

II. ALLGEMEINER TEIL

1. Struktur des DMSO

- a) chemische Eigenschaften
- b) physikalisch-chemische Eigenschaften
- c) Resorption, Verteilung und Ausscheidung von DMSO
- d) Toxizität

2. Anwendungsbereiche

- a) zur Erhaltung biolog. Materials
- b) klinische Anwendung
- c) Veterinärmedizin
- d) Landwirtschaft

III. SPEZIELLER TEIL

1. Versuchsanordnung

2. Eigene Untersuchungen

A-Serie: Trocknung von Leberstückchen 24-144 Stunden

B-Serie: Trocknung von Leberstückchen 24-192 Stunden
in strömender Luft (Zimmertemperatur)

C-Serie: 8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) danach 1-10 Tage
in DMSO und wechselnder 70- und 100%
iger Alkoholbehandlung

D-Serie: 8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur), danach 1/2-4
Stunden Antiformineinwirkung sowie
Behandlung mit 70%igem Alkohol

E-Serie: 8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur), danach Behand-
lung mit einem Gemisch von DMSO und
unterschiedlichem Antiforminzusatz.

IV. DISKUSSION

V. ZUSAMMENFASSUNG

VI. SCHRIFTTUM



I. EINLEITUNG

Die histologische Bearbeitung von operativ und autopsisch gewonnenen Gewebsschnitten, sowie eine verbindliche Diagnostik an diesen, setzt ein gut erhaltenes oder mindestens sachgemäß fixiertes Material voraus. Trotzdem kommt es immer wieder vor, daß aus mancherlei Gründen mehr oder minder kleine Gewebspartikel untersucht werden müssen, die vor der histologischen Bearbeitung bereits beträchtliche Veränderungen erfahren haben. Dies kann auf unsachgemäße Behandlung, etwa durch Stehenlassen in der Wärme, in der Zugluft oder unter Operationslampen, ferner auch durch verspäteten Transport zum Labor, Austrocknung in unfixiertem Zustand, in der Aufbewahrungsschale, bei Postversand durch Zerbrechen des Glasröhrchens und Auslaufen der Fixierflüssigkeit und ähnliche Umstände hervorgerufen werden.

Drei Faktoren können grundsätzlich das entnommene Gewebe beeinflussen:

die Autolyse, die Wirkung von Bakterien (Fäulnis) und die Austrocknung. Die Autolyse entsteht durch das Wirksamwerden zelleigener Fermente, abhängig von der Änderung des intrazellulären pH-Wertes und der Temperatur. Höhere Temperaturen sind der Autolyse förderlich, tiefere Temperaturen halten sie auf. Gleiches gilt auch für hinzutretende Fäulnisbakterien. Beide Phänomene (Autolyse und Fäulnis) werden durch Austrocknung des Gewebes behindert, da beide eines möglichst wässrigen Milieus bedürfen.

Trotzdem ist für die histologische Bearbeitung auch die Austrocknung ein durchaus störendes Moment, da die Zellen hierbei Schrumpfungseffekte erleiden, die sie dem histologischen Diagnostiker nicht mehr eindeutig erkennbar werden lassen.

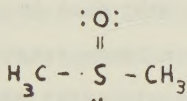
Aus diesem Grunde war es im Interesse einer verbindlichen histologischen Diagnostik seit langem das Bemühen der Labortechnik, eine Methode zu gewinnen, die es erlaubt, eingetrocknete und geschrumpfte kleine Gewebsteile wieder soweit anzufrischen, daß sie möglichst dem idealen Zustand sachgemäß fixierten Ausgangsmaterials nahekomen. Die gebräuchlichste Methode dieser Art lag in der Anwendung von Antiformin, einer Alkali-hypochloritlösung und Alkali-hydrat zu gleichen Teilen. Man konnte Antiformin als "gewebliches Lösungsmittel" bezeichnen, da es völlig eingetrocknete und geschrumpfte Materialien wieder auflockert und überhaupt erst wieder bearbeitungsfähig macht. Die Einführung schon lange bekannter Lösungsmittel in die Technik, wie z.B. Dimethylsulfoxyd (DMSO) veranlaßte uns, diesen Stoff daraufhin zu testen, ob er ein dem Antiformin ebenbürtiges oder diesem sogar überlegenes Anfrischungsmittel darstellen könnte. Die Tatsache, daß Dimethylsulfoxyd in besonders hohem Maße diffusions- und resorptionsfähig ist und daß es in der therapeutischen Medizin bereits ausgebreitete Anwendung findet, ließen uns die nachfolgende Untersuchung durchführen.

II. ALLGEMEINER TEIL

Dimethylsulfoxyd wurde erstmals von dem deutschen Forscher Alexander Saytzeff im Jahre 1866 synthetisiert. Es entsteht als Nebenprodukt in großen Mengen bei der Papierherstellung. Obwohl es als chemische Substanz so lange Zeit bekannt war, wurde seine Bedeutung als Lösungsmittel für Kunststoffe und synthetische Fasern erst in den fünfziger Jahren bemerkt. Heute wird es in der Technik als Lösungsmittel für Polyacrylnitril und Acetat-Kunstseide, als Lackentferner oder als Gefrierschutzmittel verwendet. (49, 19, 27)

a) Reines Dimethylsulfoxyd ist eine farblose und geruchlose, sehr hygroskopische Flüssigkeit und läßt sich mit Wasser in jedem Verhältnis unter Wärmebildung mischen.

Dimethylsulfoxyd hat folgende Strukturformel:



Das Molekül ist pyramidenförmig mit Sauerstoff, Schwefel und Kohlenstoff an den Endpunkten. Infolge der Polarität der Schwefel-Sauerstoff-Bindung hat Dimethylsulfoxyd eine hohe Dielektrizitätskonstante. Es setzt den Gefrierpunkt wässriger Lösungen herab. Die Basizität von Dimethylsulfoxyd, die sich aus der großen Elektronendichte am Sauerstoffatom ergibt, ist höher als die des Wasserstoffs. Es bildet kristallisierte Salze mit starken Säuren. Die Substanz siedet bei 189° und gefriert bei 18°. Das

Molekulargewicht ist 79. (16, 6)

b) Dimethylsulfoxyd ist ein gutes Lösungsmittel, es rechnet zu den aprotischen Substanzen, zu denen weiterhin Nitrobenzol, Dimethylformamid gehören. Zu den protischen Substanzen rechnet man Wasser, Alkohol etc. Auch Wasser ist ein gutes Lösungsmittel. Beide lösen beispielsweise Zucker und hydroxylierte Substanzen, weiter Salze, DMSO überdies Proteine, Ester und einzelne hochmolekulare Stoffe, wie wir sie in gewissen Kunstfasern haben. Es ist ein viel angenehmeres Lösungsmittel, als das früher gebrauchte Dimethylformamid. Bei den unterschiedlichen Löslichkeiten der Substanzen, spielen die Dipole der Moleküle, weiter ihre Fähigkeit, Wasserstoffbrücken zu bilden, eine Rolle. Starke Unterschiede ergeben sich zwischen Wasser und Dimethylsulfoxyd, wenn man die beiden Lösungsmittel als Reaktionsmedien betrachtet. Im DMSO sind Anionen nicht solvatisiert. Diese unbelasteten Ionen reagieren viel schneller als die üblichen hydratisierten oder solvatisierten Ionen. Die Geschwindigkeitskonstanten mancher Reaktionen werden um Zehnerpotenzen vergrößert, die Lage mancher Gleichgewichte ist völlig verändert. Das Lösungsmittel hat großen Einfluß auf die Molekül-Gestalt. Die Gestalt oder der Zustand des Moleküls ist stark von seiner Umgebung (und von der Temperatur) abhängig. Auch einfache Gestaltsveränderungen können bedeutungsvoll sein. Das Molekül ist in ein Stück makroskopische Materie eingebaut. Die Gestalt des Materiestückes ist an die Gestalt des Moleküls gebunden. Eine Gestaltsänderung des einen beeinflusst

die Gestalt des anderen. Man muß dabei noch zwischen -geschlossenen Systemen- und offenen Systemen unterscheiden, bei denen mit der Gestaltsänderung ein Austausch von Materie mit der Umgebung einhergeht. Wir sprechen auch von "mechanochemischen Effekten". Mechanochemische Effekte machen es möglich, daß das Gewebe unter dem Einfluß des DMSO entquillt. Abgesehen von ihren mechanischen Konsequenzen stellt die Entquellung oder das Ertränken des Gewebes in DMSO einen radikalen Milieuwechsel dar, der in der Wirkung vielleicht mit einer Temperaturänderung vergleichbar ist. Daneben sind natürlich eigentliche chemische Wirkungen möglich. Zum Beispiel wurde der Einfluß von DMSO auf die Depolymerisation von Hyaluronsäure untersucht. Im biologischen Bereich war bis jetzt Wasser das gewöhnliche Lösungsmittel, aber es hat den Nachteil, daß es beispielsweise die Haut nur schlecht durchdringt. In DMSO ist nun ein Lösungsmittel gefunden, das im Gegensatz zu Wasser die Hautbarriere mühelos überwindet. (16, 23, 40)

c) Resorption, Verteilung und Ausscheidung von DMSO.

Die Penetration durch die intakte Haut von Mensch und Tier ist ausgesprochen rasch. Bei Hunden war der Wirkstoff nach 10 Minuten und cutaner Applikation im Blut nachweisbar. Das Blutspiegelmaximum wurde nach 20-30 Minuten nach dem Auftragen auf die Haut erreicht. Die Blutspiegelwerte waren dann mehrere Stunden gleich. Als hauptsächliches Stoffwechselprodukt tritt im Harn das Dimethylsulfon (beim Menschen nach 10 Tagen die Hälfte der aufgetragenen Radioaktivität) und ein geringer Prozentsatz $\sim 3\%$ wird als Dimethylsulfid

über die Lunge ausgeschieden. Dadurch entsteht der knoblauchähnliche Geruch der Atemluft. Untersuchungen mit radioaktiv markiertem DMSO haben gezeigt, daß der Schwefel aus dem DMSO einige Tage lang im Schwefel-Pool des Körpers verbleiben kann. (45)

d) Toxizität

Die Toxizität von Dimethylsulfoxyd ist erstaunlich gering, wie sich aus tierexperimentellen Untersuchungen ergab. Bei Maus, Ratte und Hund zeigten sich bei Kontrolluntersuchungen keine Veränderungen der Leberfunktion, der Nierenfunktion und des hämopoetischen Systems. Die LD_{50} von DMSO in g/kg nach einmaliger Verabreichung liegt nach intravenöser Gabe bei der Maus und Ratte zwischen 3,8 und 8,9 g/kg, nach intraperitonealer Verabreichung zwischen 13,0 und 17,7 g/kg, subcutan zwischen 12,0 und 20,5 g/kg, nach oraler Verabfolgung zwischen 16,5 und 28,0 g/kg. Beim Hund beträgt die LD_{50} nach oraler Verabreichung 8,25 g/kg. (4, 13, 23)

2. Anwendungsbereiche:

Dimethylsulfoxyd ist ein gutes Lösungsmittel für ein breites Spektrum chemischer Verbindungen und vielseitig sein Anwendungsbereich in der Technik.

a) Es schützt tierisches Zellmaterial vor der schädlichen Wirkung des Einfrierens und Wiederauftauens. Es wird als Gefrierstoff für Rindererythrocyten verwendet. Hier zeigt sich, daß es dem Glycerin überlegen ist, das die Membran von Rindererythrocyten nicht permeieren kann. (50)

Knochenmarkzellen von Mäusen, die unter Zusatz von Dimethylsulfoxyd auf -79° C eingefroren und einen Monat bei dieser Temperatur gelagert worden waren, konnten mit letalen Röntgenstrahlen bestrahlte Mäuse fast ebenso sicher am Leben erhalten, wie frische Knochenmarkzellen. Dagegen hatte die Injektion von Knochenmarkzellen, die ohne DMSO Zusatz eingefroren worden waren, keine lebenserhaltende Wirkung auf die Mäuse. (2, 3, 37)

b) Die guten pharmakologischen Eigenschaften bilden die Grundlage für ein weites Indikationsgebiet. Es ändert die Membranpermeabilität, wirkt analgetisch, antiphlogistisch, bakteriostatisch, als Diureticum und potenziert die Wirkungen anderer Pharmaka. (6, 22, 25)

Die rasch einsetzende und stark analgetische und antiphlogistische Wirkung von DMSO kommt durch die ungewöhnlich schnelle Resorption durch die Haut zustande. Dabei spielt das große Wasseranziehungsvermögen des DMSO und seine Neigung zur Komplexbildung mit organischen und anorganischen Verbindungen eine Rolle. Eine Entquellung des erkrankten Gewebes trägt zur Schmerzbefreiung und Entzündungshemmung bei. Aus Tierversuchen und Versuchen an isolierten Nervenfasern konnte man darauf schließen, daß Dimethylsulfoxyd eine reversible Blockung von Schmerzrezeptoren bzw. von afferenten Fasern bewirkt (12). Die therapeutische Wirkung setzt meist schon nach kurzer Zeit ein und hält fast bis zu 12 Stunden an. DMSO wurde erfolgreich bei der Behandlung traumatischer Gelenk- und Muskel-

verletzungen bei windhunden angewendet, die sich diese bei Hunderennen zugezogen hatten, sowie bei Sportverletzungen beim Menschen. Die mit DMSO behandelten Patienten sprachen schneller auf die Therapie an, als die anderen Patienten. Die Dauer der Leistungsunfähigkeit bei den mit DMSO behandelten Sportlern war erheblich kürzer. (24, 50) Die lokale Anwendung von 90%igem DMSO auf offene Hautwunden bei Pferden fördert die Granulation und Heilung innerhalb von 10 Tagen. Bei Hunden wurde nach oraler Gabe von 10 ml 90%igem DMSO pro kg Körpergewicht eine sedative Wirkung bemerkt. Zur Behandlung von entzündlichen und traumatisch bedingten Erkrankungen des Muskelsystems, die mit Schwellung und Schmerzen einhergehen, hat sich DMSO besonders bewährt. Akute Erkrankungen sprechen eindrucksvoll auf DMSO an. Bei 1025 Patienten mit akuten traumatischen und entzündlichen Erkrankungen wurde mit lokaler Anwendung 3 x täglich 2-5 ml 90% DMSO in 86% schnelle Besserung erzielt.

Bei HWS-Syndrom, Lumbago Syndrom, Periarthritis und Bursitis einschließlich der Bursitis calcarea sowie Verbrennungen 2. und 3. Grades ist eine Indikation zu seiner Anwendung gegeben. In 3155 Fällen mit chronischen Erkrankungen, darunter chronischen, teils calcifizierenden Bursitiden, Arthritiden und Arthrosen wurde in 49 % eine objektive Besserung mit vollständigem Rückgang der Symptome, einschließlich radiologisch nachgewiesenem Verschwinden der Kalkeinlagerungen erzielt. Weitere Anwendungsmöglichkeiten sind Sklerodermie, bei Haemorrhoiden und Ulcus cruris,

fernerhin bei postoperativen Schmerzen, bei Neuritiden, bei Pleuritis sicca und gegebenenfalls auch bei Ossitis ossificans. wobei der Erfolg der Behandlung weitgehend abhängig ist von dem Behandlungsbeginn, der Applikationsart und der Dosis. Es wurde fast ausschließlich 90%iges DMSO benutzt, in einigen Fällen 100%, das ebenfalls gut vertragen wurde. Die Erfolge waren um so besser, je früher mit der Behandlung begonnen wurde und je großflächiger das erkrankte Gebiet eingestrichen wurde, d.h. es wurde auch auf die gesunde Umgebung des Krankheitsgebietes DMSO aufgetragen. Die Wirkung bei einer Einzelbehandlung hält bei akuten Erkrankungen eine bis zu mehreren Stunden, in einzelnen Fällen bis zu drei Tagen an. Einen Okklusivverband sollte man nicht anlegen, da es sonst zu verstärkten Hautreizungen kommen kann. Der Behandlungseffekt bei chronischen Erkrankungen tritt bei täglicher Applikation erst nach mehreren Wochen oder Monaten ein. Auch Patienten, die 20 Monate mit DMSO behandelt wurden, zeigten keine Nebenwirkungen. Bei trophoneurotischen Ulcerationen konnte man bei Sklerodermiekranken nach 27-30monatiger Behandlung eine Abheilung feststellen. Hierbei war eine Pinselung weniger erfolgreich, als das Eintauchen der Hand und des Unterarms in eine 30-50%ige DMSO Lösung. Eine Fernwirkung mit visceralen Manifestationen konnte dabei nicht festgestellt werden. Zu Beginn der Behandlung war die Hydroxyprolinausscheidung im Urin als Indiz vermehrten Kollagenabbaus gesteigert, später vermindert. Immersionsbäder sollten daher nur kurzfristig angewendet werden, um die Gefahr

einer Nierenblockierung durch zerfallenes Kollagen zu vermeiden. (5, 14, 32, 35, 39, 50)

Bei einer Langzeitbehandlung essentieller Hyperlipid- und Hypercholesterinämien mit DMSO wurde eine auffallende Rückbildung abgelagerter Lipide im Gewebe bei gleichzeitigem Anstieg der Triglyzeride und des Gesamtcholesterins im Serum festgestellt. (50)

Bei kosmetisch chirurgischen Eingriffen kann man durch post-operative lokale Anwendung von 70 % DMSO, viermal täglich, eine Thrombose und Abstoßung der Hautlappen verhindern. (50) Auch bei verschiedenen Erkrankungen im Hals-Nasen-Ohren-Bereich konnten gute Erfolge mit der lokalen Anwendung von DMSO erzielt werden, wobei DMSO als nützliches Lösungsmittel für Antibiotica bei Infektionen von Ohr, Nase und Kehlkopf dient. Kopfschmerzen, die durch Muskelverspannungen hervorgerufen werden, lassen sich durch Auftragen von DMSO auf die betroffenen Muskeln verbessern. Bestimmte Munderkrankungen lassen sich durch lokale Anwendung geringer Konzentrationen Dexamethason in 70 % DMSO beseitigen, ohne daß Nebenwirkungen auftreten. (50)

Dimethylsulfoxyd wird häufig als dem Äthanol ähnlich bezeichnet, ersteres hat koagulationsfördernde und nervenblockierende Wirkung. Es wurden gewisse synergistische Wirkungen zwischen DMSO und Äthylalkohol festgestellt. Man fand, daß DMSO unter bestimmten Bedingungen die Elimination von Äthylalkohol aus dem Kreislauf von Säugetieren zu fördern scheint. (18)

DMSO wirkt in 20%iger Konzentration bakteriostatisch auf *Escherichia coli*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium acnes*, *Pseudomonas* etc. (29,50) Czaky und Ho untersuchten die Wirkung von DMSO auf den intestinalen Zuckergehalt. Sie fanden, daß DMSO die Resorption erhöht und die Transportkinetik in Richtung eines Diffusionsvorganges verschiebt, vermutlich durch Erhöhung der Fettlöslichkeit. (9)

Humanblut hämolysiert mit 10 % DMSO weniger als 1 % mit 25 % DMSO etwa 2 %. Die osmotische Resistenz der Erythrocyten wird bei 2 % DMSO herabgesetzt, so daß bereits in 0,6%iger physiologischer Kochsalzlösung Hämolyse eintritt. DMSO wirkt in hohen Konzentrationen gerinnungshemmend. (20,15)

Neben dem hohen Permeabilitätskoeffizienten eignet sich DMSO gut für den Transport von niedermolekularen Substanzen. Fernerhin wird von diesem Stoff die Hautpenetration von niedermolekularen Allergenen wie Penicillin G, nicht aber von Allergenen mit hohem Molekulargewicht, wie sie beispielsweise im Hausstaub vorkommen, erhöht. Durch das rasche und tiefe Eindringen von DMSO in die Hornschicht wird wahrscheinlich die Wirkung von Antibiotika und bakteriziden Wirkstoffen bei der Behandlung von Pyodermien, Dermatomykosen und Akne unterstützt. (7, 21)

Bei Untersuchungen der cutanen Resorption C^{14} -markierter Steroide fand man eine erhebliche Beschleunigung und Verstärkung der Resorption, wenn die Steroide in DMSO gelöst wurden. Innerhalb weniger Minuten nach dem Auftragen von Hydrocortisonen in Anwesenheit von DMSO

auf die Haut, wurden dieselben als Reservoir im Stratum corneum festgehalten. Dieses Reservoir hielt ungefähr 16 Tage und zeigte eine Widerstandsfähigkeit gegen das Waschen der Hautoberfläche mit Seife, Wasser und Alkohol. DMSO scheint die Wirkung körpereigener Steroidhormone zu verstärken, es wird vermutet, daß dies auf die bessere Penetration der lysosomalen Membranen, einen der Angriffspunkte der Substanz, zurückzuführen sei. (48, 50)

Versuche von Hitze und DMSO auf gesunde und leukämische Lymphocyten führte zu folgendem Ergebnis: 2%iges DMSO wirkt bei Inkubation mit aufgeschwemmten Zellen sehr viel zytotoxischer auf Lymphocyten und Myeloblasten von leukämischen Patienten als auf die Lymphocyten Gesunder. (42,8)

25%iges DMSO in vitro hemmt das Wachstum polymorpher Organismen, die aus menschlichen Tumoren isoliert worden waren. Durch intravenöse Infusionen verdünnter Wasserstoffperoxyd-Lösungen in DMSO ist es möglich, eine gesteigerte Sauerstoffversorgung des Tumorgewebes und damit unter Umständen eine Hemmung der malignen Ausbreitung zu erreichen. DMSO ist im allgemeinen gut verträglich. Untersuchungen der Hauttoxizität, beim Menschen durchgeführt, ergaben, daß DMSO Histamin aus den Mastzellen der Haut freisetzt. Damit in Zusammenhang stehen die häufig beobachteten Hautreaktionen bei percutaner Anwendung, wie auch die gelegentlichen allergischen Reaktionen, die in Form einer lokalisierten oder in seltenen Fällen (unter 1 %) zu einer generalisierten Dermatitis führen können. All diese Erscheinungen waren

unbedenklich und reversibel. (50)

Bei Untersuchungen der Wirkung von DMSO auf das Auge fand man zunächst (University of Pennsylvania und Cambridge University) nach hohen Dosen, die mehrere Wochen oral oder lokal verabfolgt waren, Veränderungen des Brechungsindex der Linse bei Schweinen, Hunden und Kaninchen. Andere Versuche in Portland Oregon durchgeführt ergaben keine derartigen Wirkungen. Wenn 10 - 100%ige DMSO Lösungen direkt am Auge von Kaninchen, die tägliche Dosen bis zu 10 g/kg oral oder lokal erhalten hatten, appliziert wurden, trat jedoch nach etwa zwei Wochen eine mit der Spaltlampe erkennbare ringförmige Zone unterschiedlicher Brechkraft in den Augenlinsen auf. Katarakte wurden dagegen bei diesen Tagesdosen auch nach 10-wöchiger Behandlung nicht beobachtet. Die chemische Untersuchung dieser Linsen ließ eine Reduzierung der üblichen Konzentrationen von Harnstoff, Glutathion, Harnsäure und Aminosäuren erkennen. Die lokale Anwendung von 10 g/kg täglich hatte weniger chemische Veränderungen zur Folge und eine signifikant geringere Wirkung auf die Augenlinsen, als die orale Verabreichung.

In der Cornell University Medical School hat man 108 Patienten mit Augenerkrankungen täglich 1 bis 15 Monate mit intraokularen Gaben von DMSO behandelt. Bei Patienten, die an Hornhautödemen litten, wurde eine Besserung erzielt. Sorgfältige Augenuntersuchungen vor und nach lokaler Behandlung mit DMSO bis zu dreißigmal täglich über

19 Monate verabfolgt ergaben, daß keine Linsenveränderungen festgestellt werden konnten. Auch G. Laudahn (Berlin) konnte bei 40 Patienten, die täglich 22ml DMSO lokal über vier Monate erhalten hatten, keine Veränderungen der Augenlinse beobachten. (50)

Bei Patienten mit Schizophrenie oder schweren Psychosen konnte durch intramuskuläre Injektionen (2-5 mal tägl. 5 ml 50-80%iges DMSO) eine wesentliche Besserung erzielt werden. DMSO kann offenbar die Blut-Hirn-Schranke passieren und entfaltet eindeutig antipsychotische Wirkungen. Psychomotorische Agitation und Ängstlichkeit sprachen am besten an. (50)

c) Ein weiteres Anwendungsgebiet bietet die Veterinärmedizin. Hier wurde DMSO in verdünnter Lösung lokal bei offenen Wunden bei Pferden angewendet. Es zeigte sich der entzündungshemmende Effekt besonders eindrucksvoll. Bei Bursitis und Synovitis erzielte man ebenfalls Erfolge. Massive Lokalreaktionen (Erythem, Nekrosen) nach Antigen-Injektion bei Tieren, die vorher durch menschliches Gamma-globulin sensibilisiert worden waren, konnten durch stündliche lokale Behandlung mit verdünntem DMSO eindrucksvoll vermindert werden. (49)

d) Die Eigenschaften des DMSO als Lösungsmittel und seine gute Penetrationsfähigkeit machte man sich auch in der Landwirtschaft zu Nutze. Man stellte eine schnelle Aufnahme und Verteilung von markiertem DMSO in Pflanzen nach

Auftragen auf die Blätter oder Stiele fest. DMSO wurde als Vehikel für den Nährstofftransport bei Birnen und Erdbeeren angewandt. Ebenso wurde es zur Bekämpfung bei Pflanzenerkrankungen z.B. bei der bakteriellen Blätterfleckkrankheit der Pfirsiche herangezogen, indem niedrige Dosen von Antibiotika in DMSO-Lösungen angewandt wurden. Als Träger für Eisensalze bei Besprühen der Blätter von Citruspflanzen wurden gute Erfolge erzielt.

Nachdem die chemischen und physikalischen Eigenschaften und Verhaltensweisen, sowie die technischen und medizinischen Anwendungsbereiche der Substanz Dimethylsulfoxyd möglichst vollständig erörtert wurden, sollen im nachfolgenden Teil unsere durchgeführten Untersuchungen sowie die Versuchsanordnung dargelegt werden. Wir gingen davon aus, daß nur identisches Material, nämlich ein Gewebe, das ohnehin als parenchymatöses Gewebe erheblichen autolytischen oder Vertrocknungsschäden unterliegen kann, für die Versuchsreihe geeignet ist. Diejenigen Zellen und Gewebe nämlich, die gegenüber postmortalen Einwirkungen und Veränderungen wenig empfindlich sind, weil sie entweder eine zu feste Grundsubstanz besitzen (Knochen, Bindegewebe, Knorpelgewebe) oder die allzu weich und unübersichtlich sind, wie etwa die Nebennieren oder das Gehirn, und die aus diesem Grunde allzu schwere und auch rasch einsetzende Veränderungen erfahren, schieden als Versuchsobjekte aus. Die Leber hat zudem den Vorteil, daß sie sowohl ein empfindliches Parenchym als auch ein grobes Strukturnetz besitzt, das auch am hochgradig veränderten Organ noch eine histologische Orientierung erlaubt.

Der Dokumentationsserie wird in Abbildung 1 ein gewöhnliches durch Autopsie gewonnenes in üblicher Weise mit Formol fixiertes und nach Hämalaun-Eosin gefärbtes Lebergewebsstück vorangestellt. Die nachfolgenden Abbildungen stellen die jeweils charakteristischen Stationen der kontinuierlichen Versuchsreihe dar. Es konnten nicht alle Stufen der verschiedenen Versuchsreihen abgebildet werden, da dies den Umfang der Abbildungen hätte dreistellig werden lassen. Nochmals sei hervorgehoben, daß innerhalb der einzelnen Serien stets die identische Leber in allen Abbildungen nach den verschiedenen Modifikationen der Behandlung und vorherigen Schädigungseinwirkung betrachtet wird.

III. SPEZIELLER TEIL

Wir führten zur Vergleichsbestimmung der Anwendbarkeit von Antiformin und Dimethylsulfoxyd in der histologischen Technik folgende Versuche durch:

Identische Lebergewebsstückchen wurden als flache Excisate zu etwa 10 Pfenniggröße und 4-5mm Dicke verschiedenen Temperatur- und Austrocknungsphasen sowie auch einfacher Autolyse ausgesetzt. Die Zeiten der Expositionen sind aus den beigefügten Tabellen ersichtlich. Nach jeder Schädigungs- und Wiederaufbereitungsmaßnahme wurde eine gewöhnliche Hämalaun-Eosinfärbung nach üblicher Paraffineinbettung durchgeführt. Auch diese Färbungsmaßnahmen wurden möglichst gleichförmig gestaltet, um objektive Vergleiche ziehen zu können. Wir wählten für die Vergleichsreihen Gewebstücke des gleichen Organs, so daß die abgebildeten Veränderungen nach verschieden zeitlicher Einwirkung und auch unterschiedlicher Aufbereitung des Materials verbindliche Vergleiche ermöglichen.

1. Versuchsanordnung:

- A-Serie: Trocknung von Leberstückchen 24-144 Std.
a) ungetrocknet in Formol fixiert

Die Trocknung erfolgte:

- b) in der Kühlhalle + 2°
- c) im Brutschrank + 40°
- d) bei Zimmertemperatur + 21°
- e) im Gefrierschrank - 20°

Als Vergleichsschnitt wurde ein gewöhnlicher formolfixierter Schnitt ohne Vorbehandlung hinzugezogen.

Tabelle 1

Trocknung	24Std	48Std	72Std	120Std	144Std
Formol	a				
Kühlhalle	2a	2aI	2aII	2aIII	2aIV
Brutschrank	3a	3aI	3aII	3aIII	3aIV
Zimmertemp.	4a	4aI	4aII	4aIII	4aIV
Gefrierschrank	5a	5aI	5aII	5aIII	5aIV
DMSO (90%)	b				
Kühlhalle	2b	2bI	2bII	2bIII	2bIV
Brutschrank	3b	3bI	3bII	3bIII	3bIV
Zimmertemp.	4b	4bI	4bII	4bIII	4bIV
Gefrierschrank	5b	5bI	5bII	5bIII	5bIV

B-Serie: 24-192 Stunden Austrocknung in strömender Luft (Zimmertemperatur) anschließend in:

- a) Formalin
- b) physiolog. Kochsalzlösung
- c) Antiformin
- d) Dimethylsulfoxyd

Tabelle 2

Trocknung	24Std	48Std	72Std	120Std	144Std	168 Std	192Std
Formalin	I	II	III	IV	V	VI	VII
Kochsalzlösg.	I	II	III	IV	V	VI	VII
Antiformin	I	II	III	IV	V	VI	VII
Dimethylsulf- oxyd	I	II	III	IV	V	VI	VII

C-Serie: 8 Tage Trocknung in strömender Luft (Zimmer-
temperatur), danach 1-10 Tage in DMSO und
wechselnder 70%iger und 100%iger Alkohol-
behandlung.

Tabelle 3

Trocknung	192 Std	192 Std
Alkohol	70%	100%
1 Tag DMSO 99%	70%	
2 Tage DMSO 99%	70%	100%
3 Tage DMSO 99%	70%	100%
4 Tage DMSO 99%	70%	100%
5 Tage DMSO 99%	70%	100%
6 Tage DMSO 99%	70%	100%
7 Tage DMSO 99%		100%
8 Tage DMSO 99%	70%	100%
9 Tage DMSO 99%	70%	100%
10 Tage DMSO 99%	70%	100%
+1 Tag Formol		

D-Serie: 8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur), danach 1/2 - 4
Stunden Antiformineinwirkung sowie
Behandlung mit 70%igem Alkohol.

Tabelle 4

Trocknung	192 Std Alkohol	192 Std Formol
30 Min.Antif.	70%	1 Tag
1 Std.Antif.	70%	
2 Std.Antif.	70%	1 Tag
4 Std.Antif.	70%	1 Tag

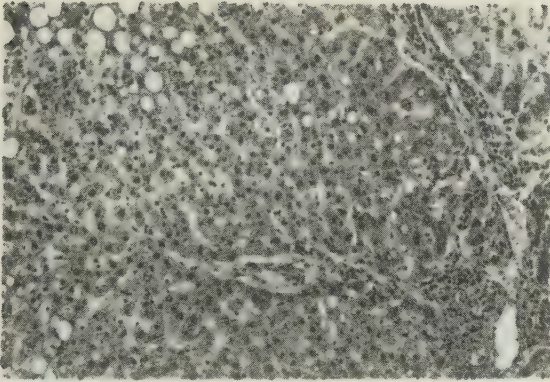
E-Serie: 8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur), danach Behandlung
mit einem Gemisch von DMSO und unter-
schiedlichem Antiforminzusatz.

Tabelle 5

Trocknung	192 Std
DMSO +25% Antiformin	1 Tag
DMSO +20% Antiformin	1 Tag
DMSO +15% Antiformin	1 Tag
DMSO + 5% Antiformin	1 Tag
DMSO + 2,5% Antiformin	1 Tag
DMSO + 2% Antiformin	1 Tag
DMSO + 1,5% Antiformin	1 Tag
DMSO + 1% Antiformin	1 Tag
DMSO + 2,5% Antiformin	2 Tage
DMSO + 2% Antiformin	2 Tage
DMSO + 1,5% Antiformin	2 Tage

Abbildung 1 entspricht einem gewöhnlichen Hämatoxylin-schnitt, wie man ihn 24 Stunden post mortem bei der Autopsie gewinnt. Er wurde mit 10%igem Formol fixiert, in Paraffin eingebettet und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Man erkennt im Bild Ausschnitte von Leberläppchenparenchym mit groben Gerüstsepten, in denen spärliche Lymphocyten eingelagert sind. Die hellen Vakuolen in der linken oberen Bildecke entsprechen einer geringgradigen, großtropfigen, läppchenzentralen Verfettung. Die Epitheltrabekel sind deutlich von den Sinusoiden geschieden, die Zellen in ihren Grenzen und mit ihren Kernen sind deutlich und distinkt angefärbt.

Nach 24stündiger Aufbewahrung der frischen nicht vorbehandelten Leberscheibe im Brutschrank bei einer Temperatur von 40° C (ohne austrocknende Zugluft) sieht man eine bereits recht fortgeschrittene Auflösung des Gewebes, die Zellkerne sind nicht mehr erkennbar, und die Konturen der Zellen sind nur schattenhaft wahrzunehmen. Große Blasen durchsetzen das Präparat. Sie scheinen auf mikrobielle feinblasige Gasbildung zurückzuführen zu sein. Die an die Vorbehandlung anschließende Formolfixierung kann diesen Auflösungsprozess nicht rückgängig machen.



A-Serie:

Abb. 1

Präparat ungetrocknet in Formol
fixiert

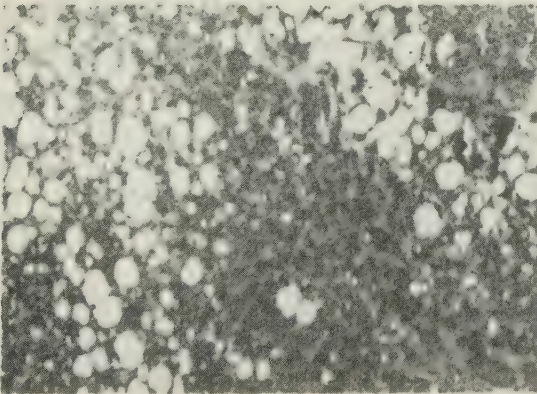


Abb. 2

24 Stunden Trocknung im Brutschrank
anschließend in Formol

Abb. 3 Ein anderes Stück der gleichen Leber bei gleicher Behandlung zeigt nach Einwirkung von DMSO nur wenig besser erhaltene Strukturen. Es fällt jedoch auf, daß das Schnittpräparat am Rande wesentlich besser erhalten ist als im Zentrum. Die Verhältnisse des zentralen Bereiches zeigt die Abb. 4, die kaum noch die Wiedererkennung des Organs als Leber ermöglicht. Als Fazit muß man feststellen, daß feuchtes Milieu und hohe Temperatur ziemlich irreversible autolytische Veränderungen hervorrufen, die auch DMSO nicht mehr rückgängig machen kann. Daß die Randteile besser erhalten sind als die zentralen, möchten wir darauf zurückführen, daß die Randabschnitte auch im Brutschrank rascher eintrocknen, so daß bei fehlendem Feuchtigkeitsgehalt des Gewebes bzw. Wasserentzug die Autolyse nicht so rasch fortschreiten kann wie im wasserreichen Zentrum.

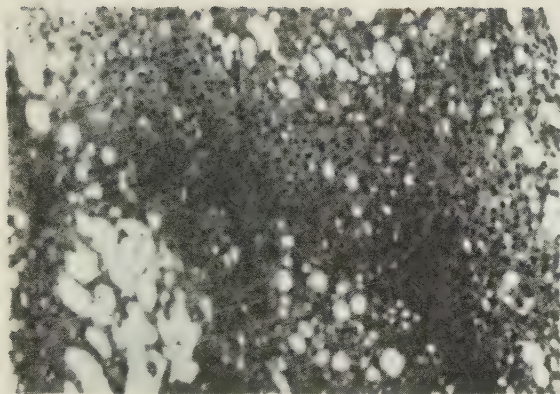


Abb. 3

24 Std. Trocknung im Brutschrank
anschließend in DMSO (Rand)

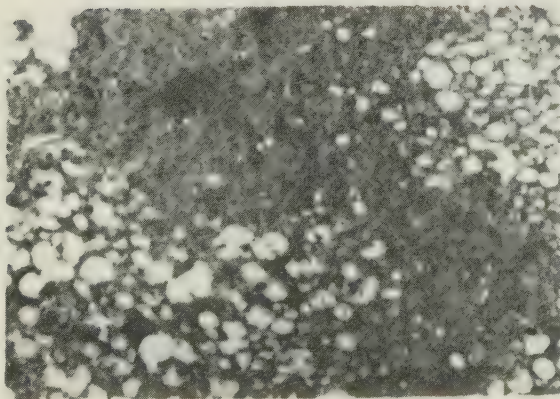


Abb. 4

24 Stunden Trocknung im Brutschrank
anschließend in DMSO (Zentrum)

Auch Abbildung 5 zeigt ein fast bis zur Unkenntlichkeit autolytisches Gewebe eines Leberschnittes, das noch in den am besten erhaltenen Partien photographisch abgebildet wurde. Man sieht eine beträchtliche feinblasige Gasbildung

Abbildung 6 entspricht dem gleichen Lebergewebe wie Abb. 5 nach 144 Stunden Aufenthalt im Brutschrank bei $+ 40^{\circ} \text{C}$, jedoch anschließender DMSO-Behandlung. Man sieht überraschend viele Leberkerne und einen größeren Strang des periportalcn Bindegewebes. Es ist immerhin noch möglich, das Leberorgan als solches zu identifizieren. Trotzdem sind hier die Folgen der Fäulnis, soweit sie mit der Gasblasenbildung verbunden ist, nicht aufzuheben.

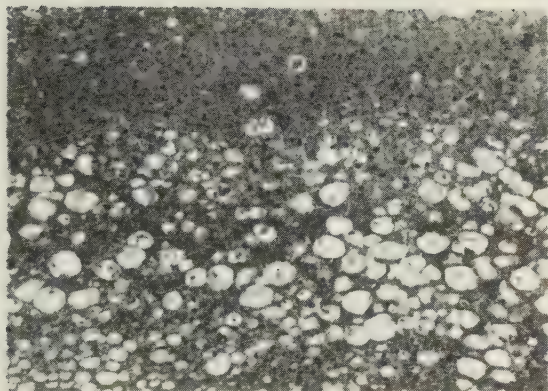


Abb. 5

144 Std. Trocknung im Brutschrank
anschließend in Formol

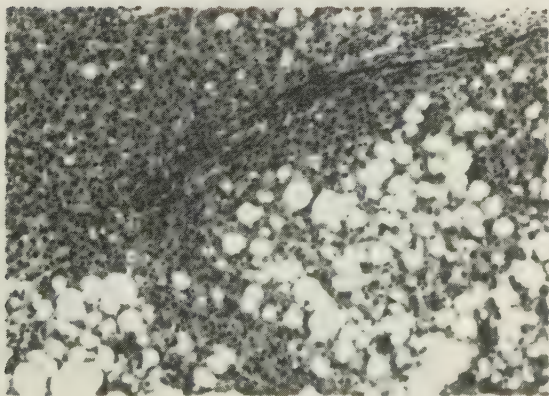


Abb. 6

144 Std. Trocknung im Brutschrank
anschließend in DMSO

Abbildung 7. Einfache Trocknung eines Lebergewebsstückchens bei Zimmertemperatur und anschließender Formolbehandlung zeigt nach 24 Stunden ein noch verhältnismäßig intaktes Leberzell- und Struktur-bild.

Abbildung 8. Das gleiche Lebergewebsstück wie Abb.7 zeigt nach DMSO-Behandlung ein ebenbürtiges Gesicht. Es sind alle Einzelheiten in gleicher Weise wahrzunehmen und zu beurteilen.

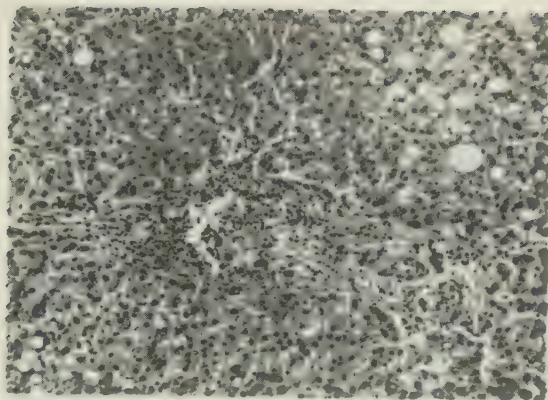


Abb. 7

24 Std. Trocknung bei Zimmertemperatur, anschließend in Formol

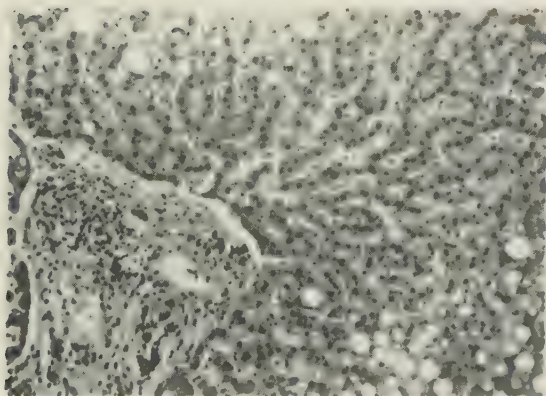


Abb. 8

24 Std. Trocknung bei Zimmertemperatur, anschließend in DMSO

Lassen wir ein Lebergewebsstück 144 Stunden lang einfach und unbehandelt bei Zimmertemperatur an der Luft liegen, so kann man nach Formolfixierung immerhin noch erkennen, daß es sich um Leber handelt. Die notwendigerweise eintretende Trocknung hat offensichtlich den Vorgang der Autolyse entscheidend gehemmt.

Wählen wir jedoch anstelle Formols das DMSO zur Nachbehandlung, so gewinnen wir, wie Abb. 10 belegt, ein wesentlich besseres Strukturbild, das sogar noch Einzelheiten in diagnostischer Hinsicht zu beurteilen erlaubt. Die Lymphocyten des portalen Feldes sind ebenso deutlich und markant unterscheidbar, wie die Kerne der Leberzellen und teilweise auch noch die Umrisse des Leberzellcytoplasmas.

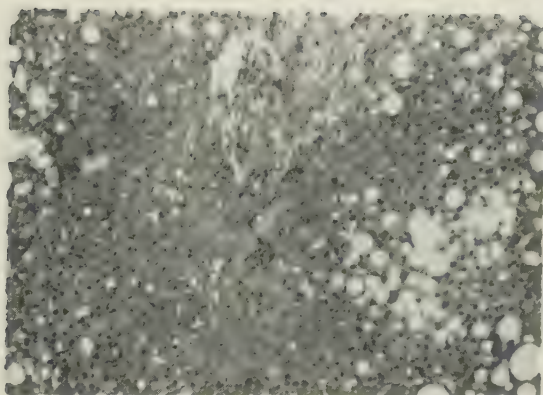


Abb. 9

144 Std. Trocknung bei Zimmertemperatur, anschließend in Formol

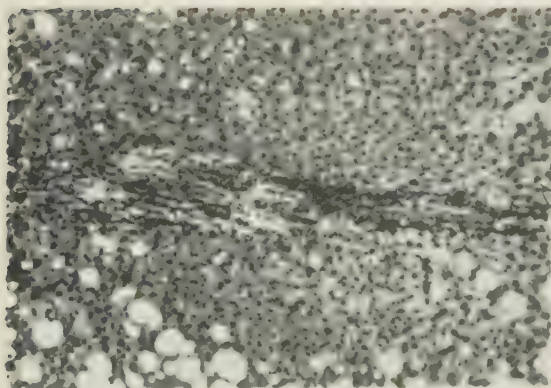
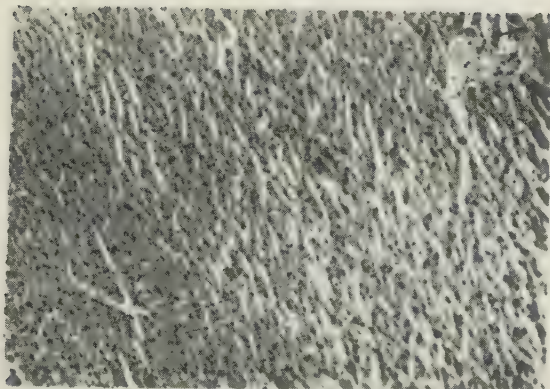


Abb. 10

144 Std. Trocknung bei Zimmertemperatur, anschließend in DMSO

Eine weitere Untersuchungsserie sollte die Ergebnisse nach völliger Eintrocknung von Lebergewebe in strömender Zugluft bei Zimmertemperatur erbringen. Man sieht in Abb. 11, daß durch die hochgradige und überwiegende Vertrocknung des Materials ein deutlicher Schrumpfungseffekt eintritt, wodurch die parallele flachdurchflochtene Lagerung der Leber-epithelien erklärt wird. Die Autolyse ist offensichtlich hintangehalten worden durch den starken Wasserverlust, der in Zugluft noch wesentlich schneller eintritt als bei einfachem Liegen in stehender Luft.

Ein Teilstück des gleichen Präparates wurde zur weiteren Bearbeitung in Kochsalzlösung gebracht, um die Vertrocknungsfolgen aufzuheben. Man sieht, daß dadurch eine lebhafte Bakterienflora in Gang kommt und zur Auflockerung des Gewebsgefüges (Verquellung mit Brüchen in den Interzellularverbindungen und Gasblasenentwicklung) beiträgt.



B-Serie:

Abb. 11

24 Std. Trocknung in strömender Luft,
anschließend in Formol

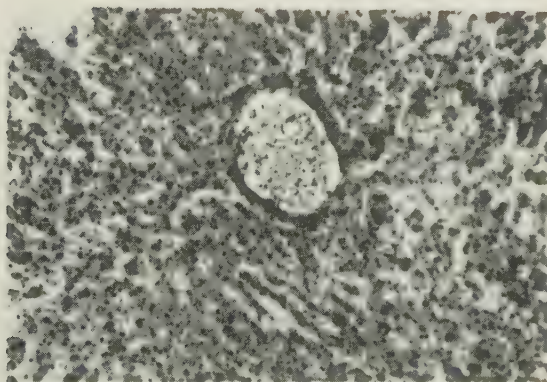


Abb. 12

24 Std. Trocknung in strömender Luft,
anschließend in Kochsalzlösung

Ein weiteres Teilstück des gleichen Präparates (Abb. 11 und Abb. 12) wurde anschließend in Antiformin verbracht. Das Resultat ist außergewöhnlich schlecht. Das gesamte Gewebsteilstück war vollständig in Auflösung begriffen, von sehr grobwarbigen Gasblasen durchsetzt und histologisch an keiner Stelle mehr als Lebergewebe identifizierbar.

Von den 4 Teilstücken (Abb. 11-14) zeigt die Abb. 14 den eindeutig besten Gesamtzustand nach gleicher Vorbehandlung, jedoch DMSO-Nachbehandlung. Man erkennt mühelos, daß es sich um Leber handelt und vermag auch noch diagnostische Einzelheiten zu differenzieren. Der Kontrast ist besonders stark im Vergleich zum Antiformin behandelten Schnitt.

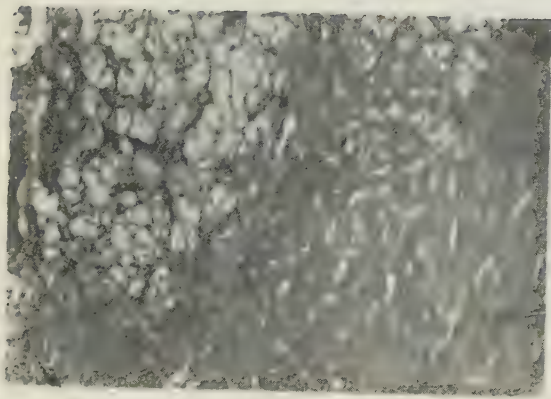


Abb. 13

24 Std. Trocknung in strömender Luft,
anschließend in Antiformin

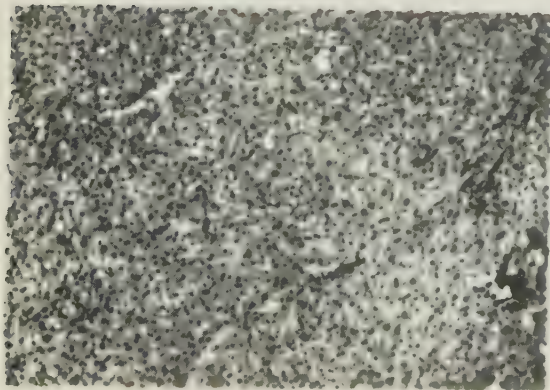


Abb. 14

24 Std. Trocknung in strömender Luft,
anschließend in DMSO

Abb. 15. Verbringt man ein dünnes Lebergewebsstück für 192 Stunden zur Trocknung in strömende Luft bei Zimmertemperatur, so wird es "steinhart". Es läßt sich nach Formolweiterbehandlung kaum noch histologisch verarbeiten. Das Ergebnis ist ein bis zur völligen Unkenntlichkeit geschrumpftes Substrat.

Weicht man das vertrocknete Gewebe in Kochsalzlösung auf, so erkennt man immerhin noch große leberepithelähnliche, durch Wasseraufnahme neu gequollene Zellen, die nicht völlig durch gleichzeitige Autolyse zugrunde gegangen sind. Daneben fördert die Kochsalzlösung auch wiederum eine lebhaftes Bakterienflora, so daß durch starke mikrobielle Gasbildung beträchtliche Strukturveränderungen zustande kommen.

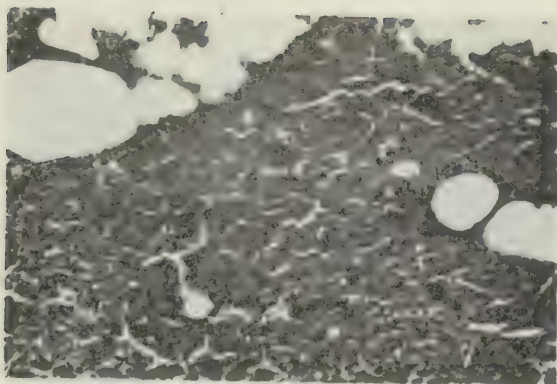


Abb. 15

192 Std. Trocknung in strömender Luft,
danach in Formol

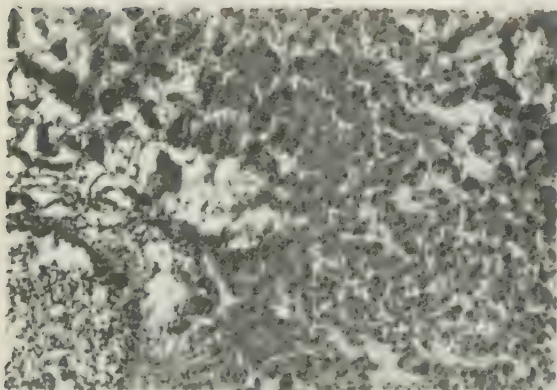


Abb. 16

192 Std. Trocknung in strömender Luft,
danach in Kochsalzlösung

Abb. 17. Antiformin vermag am 192 Stunden getrockneten Lebergewebe keine erkennbaren Strukturen zu reproduzieren. Weder Diagnostik noch Wiedererkennung der Leber sind am histologischen Schnitt möglich.

Der Unterschied der drei vorangegangenen Bilder zu dem jetzt gezeigten ist außerordentlich groß. Nach 192 Stunden Trocknung vermag DMSO ein Lebergewebe, das völlig verhärtet ist und wie Glas bricht, in einen bearbeitungs- und diagnostizierbaren Zustand zu versetzen. Die Leistungsfähigkeit der Methode wird kaum besser offenbar als durch Vergleich der Abb. 15-18.

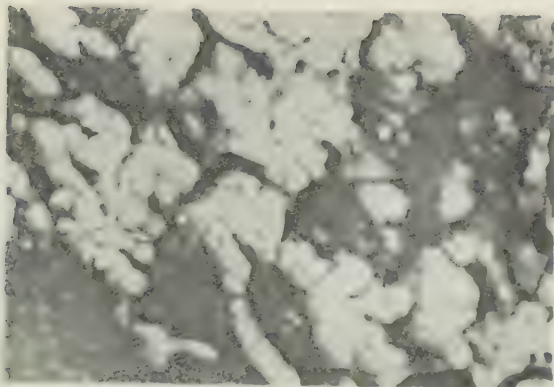


Abb. 17

192 Std. Trocknung in strömender Luft,
danach in Antiformin

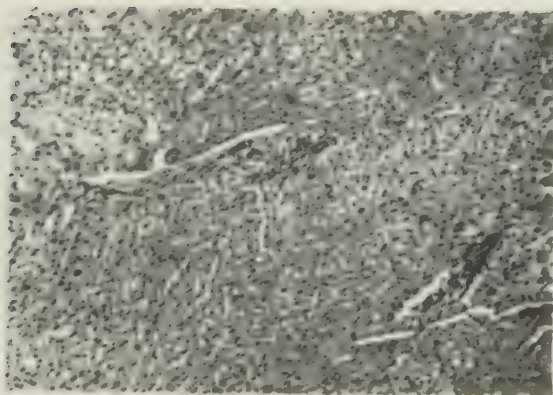
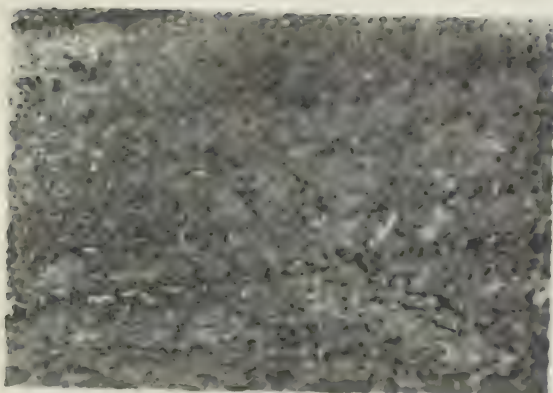


Abb. 18

192 Std. Trocknung in strömender Luft,
danach in DMSO

In der nächsten C-Serie versuchten wir den DMSO Effekt durch wechselnde Alkoholzusätze und vor allem variierte Einwirkungszeit des DMSO zu verbessern. Wie man sieht, sind die Ergebnisse nach relativ kurzfristiger DMSO Einwirkung nicht sehr günstig, auch scheint der Zusatz von 70%igem Alkohol (im Vergleich zu Abb. 18) keine besseren Ergebnisse zu zeitigen.

Auch nach 2-tägiger DMSO Einwirkung ist das Ergebnis keineswegs als befriedigend zu bezeichnen. Die Leberstrukturen sind äußerst verschwommen, eine Organdiagnose ist nicht sicher möglich.



C-Serie:

Abb. 19

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 1 Tag DMSO und
70%iger Alkohol

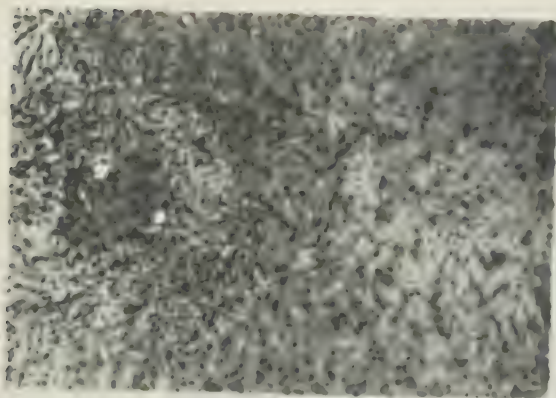


Abb. 20

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 2 Tage DMSO und
70%iger Alkohol

Etwas besser wird der Erfolg nach dreitägiger DMSO-Einwirkung und Verwendung von 100%igem Alkohol als Zusatz.

Nach 4tägiger Einwirkung bei 70%igem Alkohol ist das Ergebnis besser als in den beiden vorigen Präparaten. Als Fazit ist zu ziehen, daß der Alkoholzusatz zu dem DMSO offensichtlich gegenüber einfacher DMSO Verwendung längere notwendige Einwirkungszeit erfordert. Immerhin ist eine begrenzte Verwendbarkeit des Gewebsschnittes noch vorhanden und in Anbetracht der 8 Tage währenden Eintrocknung eines völlig unfixierten Gewebes als erstaunlich zu bezeichnen.

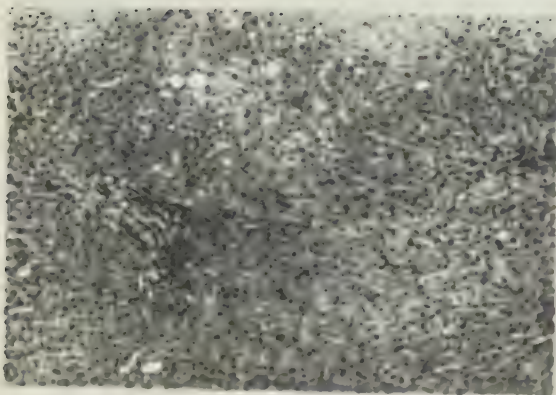


Abb. 21

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 3 Tage DMSO und
100%iger Alkohol



Abb. 22

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 4 Tage DMSO und
70%iger Alkohol

Dehnt man die Zeit der DMSO- und Alkoholeinwirkung noch länger aus, so wird etwa nach 5 Tagen ein gewisses Optimum überschritten. Makroskopisch wird das Gewebe in ganz überraschender Weise weich, biegsam, der Paraffinbearbeitung durchaus zugänglich und vor allem wird der Hauptnachteil der Kochsalzwässerung oder Antiforminbehandlung völlig vermieden: das hemmungslose und gewebserstörerische Wachstum von Keimen. Die Autolyse ist durch den Eintrocknungsvorgang an sich schon relativ weit hintangehalten worden und praktisch unterblieben, sonst würde es völlig unmöglich sein, derartig gute histologische Schnitte und Abbildungen nach 8 Tage wählender Gewebsverwesung zu erzielen.

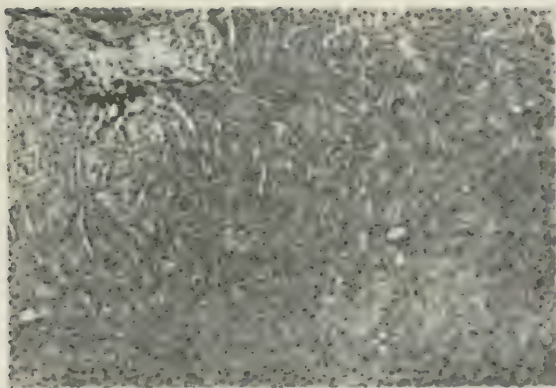


Abb. 23

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 5 Tage DMSO und
100%iger Alkohol

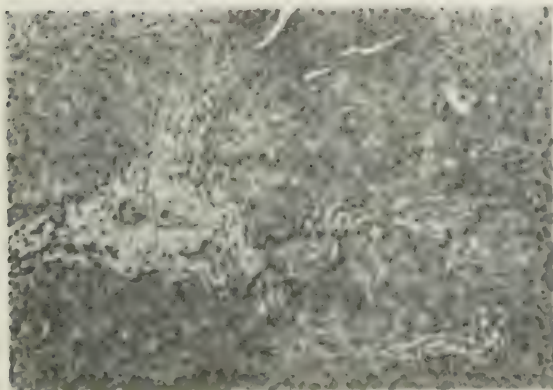


Abb. 24

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 6 Tage DMSO und
70%iger Alkohol

Zum Vergleich zu den guten histologischen Ergebnissen nach DMSO und Alkoholnachbehandlung möge die Abb. 25 zeigen, wie sich ein Formolzusatz zum DMSO der Nachbehandlung auswirkt. Hier haben wir einen ausgesprochen schlechten, nicht mehr diagnostisch oder analytisch verwendbaren Schnitt vor uns, der keine Kerne und Zytoplasmastrukturen sichern läßt.

Etwas besser ist das Ergebnis bei Verwendung von Antiformin, das jedoch nur kurzfristig einwirken darf, in Kombination mit 70%igem Alkohol. Hier sind zwar die Kerne gut sichtbar, dafür sind die Zellgrenzen vollständig verwaschen und die Trabekelstrukturen der Leber sowie auch die Sinusoide in einem homogenisierten Substrat völlig aufgegangen und verschwommen.

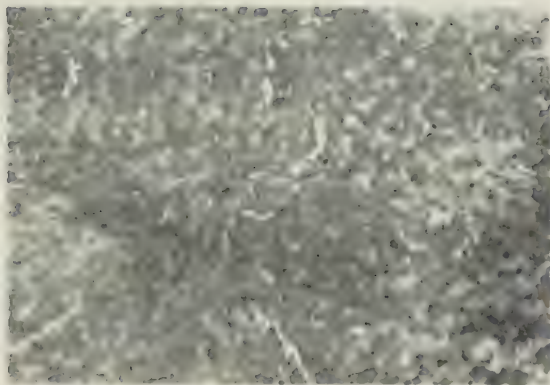
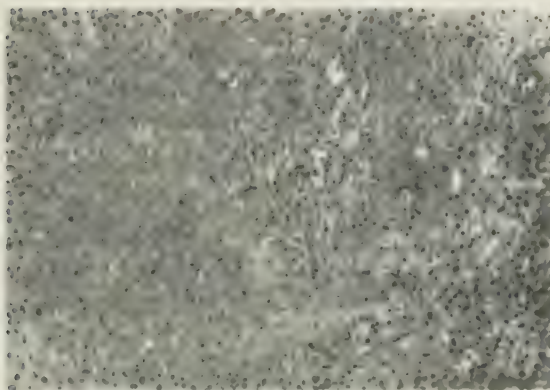


Abb. 25

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 10 Tage DMSO und
1 Tag Formol



D-Serie: Abb. 26

8 Tage getrocknet in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 30 Minuten Anti-
formin und 70%iger Alkohol

Läßt man Antiformin längere Zeit einwirken, so werden die Folgen immer fataler. Völlige Verwaschenheit der Zellgrenzen läßt keine strukturellen Einzelheiten des Organs mehr wahrnehmen. Auch die Kerne verdämmern bereits bis zur Unkenntlichkeit.

Nach vierstündiger Antiformineinwirkung und 70%igem Alkohol ist das Gewebe restlos aufgelöst und nicht einmal mehr als Gewebsschnitt mit Organbezug wiederzuerkennen.

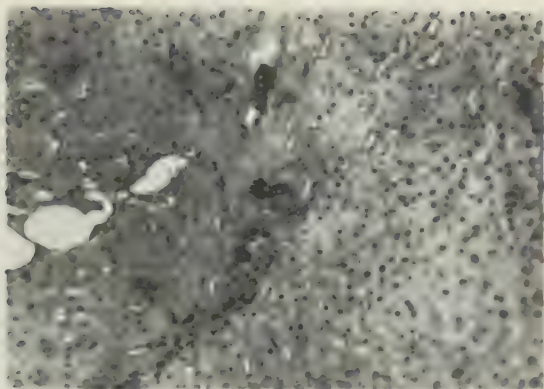


Abb. 27

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 2 Stunden Anti-
formin und 70%iger Alkohol

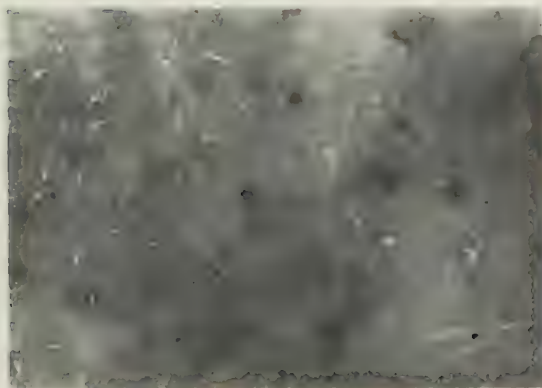


Abb. 28

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 4 Stunden Anti-
formin und 70%iger Alkohol

Hat die Kombination Antiformin und Alkohol ver-
heerende Auswirkungen, so sind die Kombina-
tionen Antiformin und Formol sowie Antiformin
und DMSO weit besser im Resultat.

Die Abb. 29 zeigt ein verhältnismäßig gutes
Strukturbild bzw. Wiederherstellung der
organspezifischen Einzelheiten trotz 8 Tage
dauernder Austrocknung mit fast völligem
Wasserentzug.

Auch die Abb. 30 (DMSO und 2%iges Anti-
formin) hat ein verhältnismäßig gutes
Resultat erbracht.

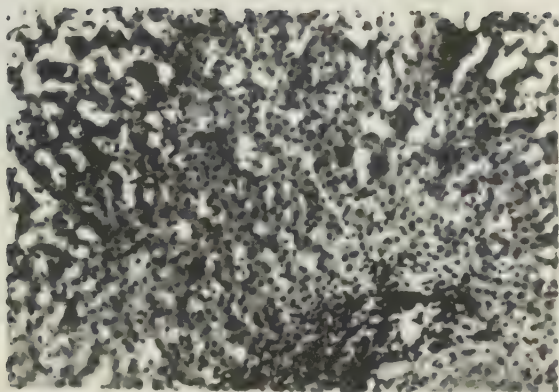
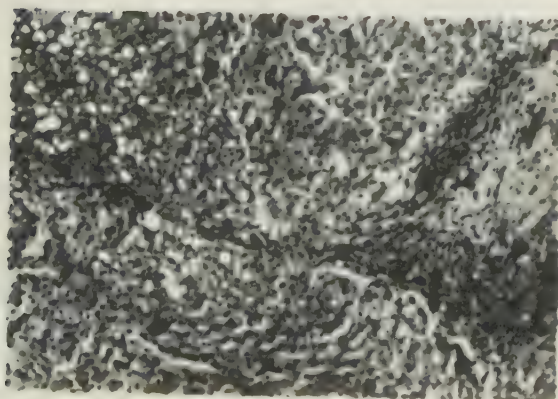


Abb. 29

8 Tage Trocknung in strömender Luft
(Zimmertemperatur) 2 Stunden Anti-
formin und 1 Tag Formol



Serie E:

Abb. 30

192 Stunden getrocknet in strömen-
der Luft (Zimmertemperatur), 1 Tag
DMSO und 2 % Antiformin

Daß die Antiforminkonzentration von wesentlicher Bedeutung sein kann, zeigt Abb. 31, deren ungewöhnlich schlechte Darstellung des Lebergewebes auf die Verwendung hochprozentigen Antiformins zurückzuführen ist.

Abb. 32 läßt sogleich nachweisen, daß bei nur 5 % Antiformin und DMSO ein durchaus zufriedenstellender Restitutions-effekt erzielt wird.

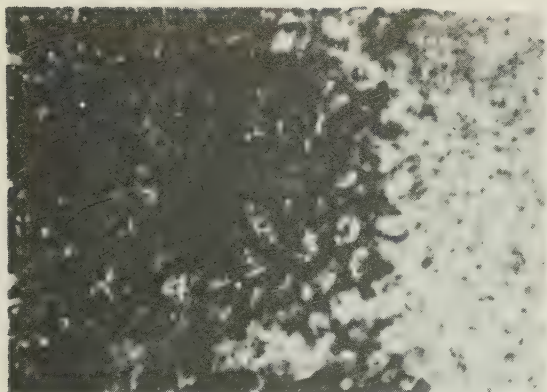


Abb. 31

192 Stunden getrocknet in strömender
Luft (Zimmertemperatur), 1 Tag DMSO
und 25 % Antiformin

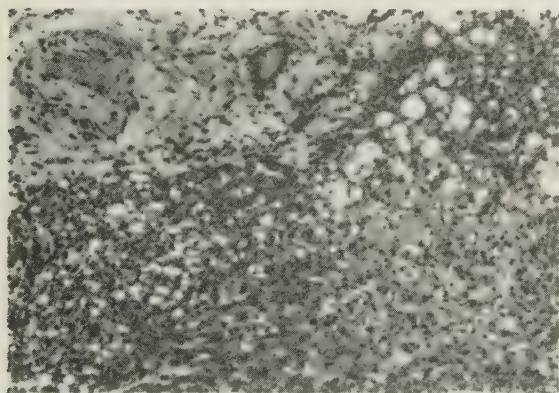


Abb. 32

192 Stunden getrocknet in strömender
Luft (Zimmertemperatur), 1 Tag DMSO
und 5 % Antiformin

Die Verwendung von schwachen Antiforminlösungen (1 % und 2 %), wie es die Abbildungen 33 und 34 belegen, zeigt ganz offensichtlich, daß die Ergebnisse immer besser werden, je schwächer das Antiformin dem DMSO beigemischt wird und je länger das DMSO auf das Gewebe einwirkt. Daraus geht hervor, daß im Grunde die alleinige Verwendung von DMSO die günstigeren Resultate ergibt, so daß man auf Antiformin u.E. ganz verzichten kann.

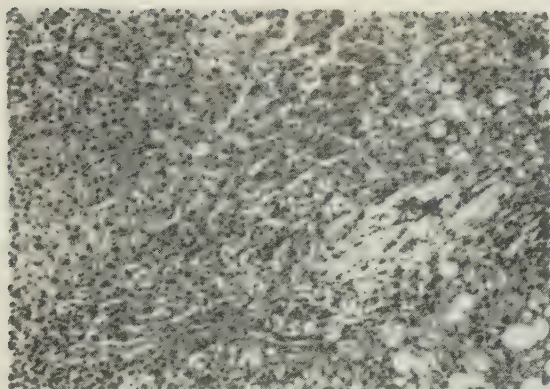


Abb. 33

192 Stunden getrocknet in strömender
Luft (Zimmertemperatur) 1 Tag DMSO
und 1 % Antiformin

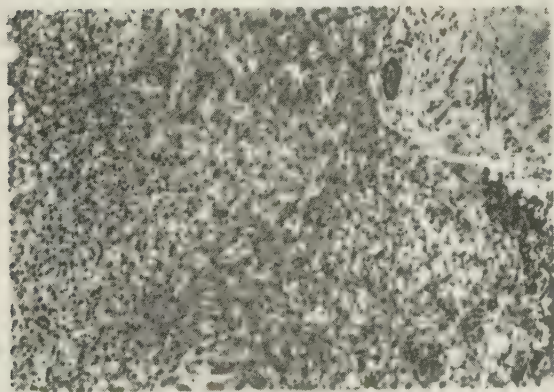


Abb. 34

192 Stunden getrocknet in strömender
Luft (Zimmertemperatur) 2 Tage DMSO
und 2 % Antiformin

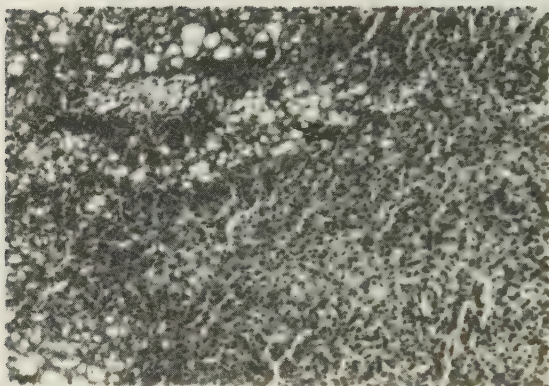


Abb. 35

192 Stunden getrocknet in strömender
Luft (Zimmertemperatur) 2 Tage DMSO
und 0,5 % Antiformin

IV. Diskussion der Befunde

Unsere systematischen Reihenuntersuchungen an verschieden geschädigtem Lebergewebe mit wechselnder Nachbehandlung zur Wiederauffrischung haben ergeben: Die wesentlichen Merkmale der Gewebszerstörung nach dem Tode beruhen in der Autolyse, der Fäulnis und der Eintrocknung in durchaus unterschiedlichem Grade. Die Folgen der Autolyse sind weitgehend irreversibel und auch durch Auffrischungsmaßnahmen nicht rückgängig zu machen. Sie bedarf zu ihrer Entwicklung des im Gewebe verbliebenen Wassers oder aber eines feuchten äusseren Milieus. Für die Fäulnis ist die Autolyse und die Gegenwart von Bakterien Vorbedingung. Beide Prozesse werden durch Eintrocknung weitgehend behindert und ihre Auswirkungen im Gewebe werden durch Trocknung hintangehalten. Die Trocknungserscheinungen andererseits sind durch bestimmte Wiederauffrischungsmaßnahmen rückgängig zu machen, so daß man selbst nach verhältnismäßig langen Zeiten ein durchaus passables histologisches Gewebspräparat herzustellen vermag. Die bisher gebräuchlichen Methoden der Anfrischung eingetrockneten Materials durch Antiformin oder Kochsalzlösung werden in mehreren Versuchsreihen mit dem DMSO verglichen. Wir haben den Eindruck, daß das DMSO einen besseren Wirkungsgrad besitzt und sich daher zur Wiederauffrischung eher empfiehlt als die bisher gebräuchlichen Methoden.

von der Kombination des DMSO mit Antiformin, Alkohol, oder Formol haben wir keine überzeugenden Eindrücke gewinnen können. Prinzipiell ist eine Auffrischung unbedingt notwendig, wenn man völlig vertrocknetes Gewebematerial überhaupt histologisch bearbeiten will. Wir untersuchten beispielsweise unter anderem auch ein kleines Stück Haut einer 50 Jahre alten Jagdtrophäe, nämlich eines Elefanten. Diese Elefantenhaut war vollständig mumifiziert und in diesem Zustand völlig unschneidbar für ein Mikrotom. Vorbehandlung mit DMSO als "Weichmacher" ergab ein hervorragendes Resultat, fast wie von einem frisch erlegten Elefanten. Ähnliche günstige Erfolge dürfte man auch etwa bei Untersuchungen altägyptischer Mumien erwarten, wenn man sie histologischer Analyse unterzieht.

Grundsätzlich kann auch das DMSO einmal erfolgte Gewebsaufösungen nicht wiederherstellen. Kühlung und Eintrocknung sind jedoch Methoden, um eine längere Konservierung zu ermöglichen. Tiefkühlung ergibt, wie allgemein bekannt, die besten Resultate.

Für die Praxis, in der man sich häufiger einmal mit lediglich eingetrocknetem Gewebematerial plagen muß, erscheint uns die Gewinnung einer optimalen und gleichmässig gut wirksamen Methodik wünschenswert zu sein, und wir glauben, daß das DMSO in dieser Hinsicht der histologischen Methodik dienlich sein kann.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In einigen Versuchsreihen wurde autolysiertes und eingetrocknetes autoptisch gewonnenes Lebergewebe mit verschiedenen Methoden "angefrischt", um es für eine histologische Bearbeitung und Diagnostik verwendungsfähig zu machen. Es ergab sich, daß das Lösungsmittel Dimethylsulfoxyd (DMSO) den bisher gebräuchlichen Methoden (Antiformin) überlegen ist.

VI. SCHRIFTTUM

- (1) Albert et
Nguyen-Huu

Effects du dimethylsulfoxyde
(DMSO) sur la cicatrisation
des plaies.
La Presse Medicale
No 75.20 1967
- (2) Ashwood-Smith, M.J.

Viability of mouse bone
marrow frozen to -79°C in
the presence of dimethyl
sulfoxyde.
J. Physiol. 155:260 1961
- (3) Ashwood-Smith, M.J.

Preservation of mouse bone
marrow at -79°C with dimethyl
sulfoxide.
Natur 190,4782:1204 1961
- (4) Auclair u.
Thevenot

Toxicologie et pharmacologie
d'un solvant organique le
dimethylsulfoxyde.
Compt. rend. Soc. Biol.
158, 10: 1887 1964
- (5) Bachmann, D.M.
Bottomly, D.R. u.
Shimanzki

Additional observations of
dimethyl sulfoxide effects
in patients with connective
tissue disease.
Arthritis a. Rheumatism.
7:725 1965
- (6) Block, L.H.

Dimethyl sulfoxide. Medicinal
and pharmaceutical aspects.
Drug a. Cosmetic. Industry
95,3:342,345-346 1964
- (7) Bublitz, G. u.
Gries, G.

Zur Wirkung von DMSO
(Pharmakolog. u. klin.
Ergebnisse).

- Z. ärztl. Fortbild.
Heft 11 1966
- (8) Cavins, J.A.
Djerassi, I., u.a. Preservation of viable human granulocytes at low temperatures in dimethyl sulfoxide. Cryobiology 2, 3:129-133 1965
- (9) Csaky, T.Z. u.
Ho, P.M. Effect of dimethylsulfoxide on the intestinal sugar transport. Proc.Soc.Exp. Biol. Med. 122,3:860-865 1966
- (10) Ehrlich, G.E.
u. Joseph, R. Dimethyl sulfoxide in scleroderma. Pennsylv. Med.J. 68,51-53 1965
- (11) Etzler, K.
Joswig, E.H. u.
Malach, H.J. Weitere Ergebnisse über die gemeinsame Wirkung von Alkohol und Dimethylsulfoxyd im Tierversuch. Arzneimittelforsch. 16.9:1228-1232 1966
- (12) Fabianek, J., u.
Herp, A. Studies of the effect of dimethylsulfoxide on permeability of dermal connective tissue. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 122,1:290-292 1966
- (13) Farrant, J. Pharmacological actions and toxicity of dimethyl sulfoxide and other compounds which protect smooth muscle during freezing and Thawing.

- J.Pharmacy a.Pharmacol,
7:472 1964
Ref.Excerpta med. II C,
18,1 1965
- (14) Ferguson, J.W. Study of dimethyl sulfoxide and arthritis and rheumatoid conditions.
West.Med.S. 331-333 1966
- (15) Gerhards, E., Stoffwechselu. Stoffwechsel-
Gibian, H., u. wirkungen von Dimethylsulf-
Raspe, G. oxyd.
Arzneimittelforsch.
15.11:1295-1297 1965
- (16) Grün, F. Pharmaka, Lösungsmittel u.
zwischenmolekulare Kräfte.
Helv.Physiol.Pharmakol.
Acta 23 1965
- (17) Häusler, G. u. Untersuchungen zur Pharma-
Jahn, U. kologie von Dimethylsulfoxyd
(DMSO)
Arch. int. pharmacodyn.Therap.
159,2:386-400 1966
- (18) Heck, K. Über die gemeinsame Wir-
Mallach u.a. kung von Alkohol u. DMSO
beim Menschen.
Med. Welt.17 (W.F.)
37:1963-1975 1966
- (19) Herschler, R.J. DMSO - a new drug from
Jacob, S.W. lignin.
Tappi 48,6:43 A 1965
- (20) Huggins, Ch.E. Preservation of blood by
freezing with dimethyl
sulfoxide and its removal
by dilution and erythrocyte
agglomeration.

- | | | | |
|------|--|---|------|
| | Vox Sanguinis | 8:99 | 1963 |
| (21) | Jacob, St.W.
Bischel, M.u.
Herschler, R.J. | Dimethyl sulfoxide: effects
on the permeability of
biologic membranes
(Reeliminary Report)
Current Therap. Res.
6,3:193 | 1964 |
| (22) | Jacob, St.W.
Bischel, M.u.
Herschler, R.J. | Dimethyl sulfoxide (DMSO)
a new concept in pharmaco-
therapy.
Current Therap. Res.
6, 2:134 | 1964 |
| (23) | Jacob, St.W. u.
Rosenbaum, E.E. | The toxicology of dimethyl
sulfoxide (DMSO)
Headache 6, 127-136 | 1966 |
| (24) | John, H. | Erfahrungen mit der thera-
peutischen Anwendung von
Dimethylsulfoxyd in der
Orthopädie.
DMSO-Symposium 1965
Saladruk Berlin | 1965 |
| (25) | Kleberger, R. | DMSO-Tagung:
Vielversprechende Ergeb-
nisse, Fortsetzung der
Erprobung verlangt.
Med.Trib. (Frankfurt/Main)
1,12:1, 13 u. 15 | 1966 |
| (26) | Kligman, A.M. | Topical pharmacology and
toxicology of dimethyl
sulfoxide.
Part 1, J. Amer. Med. Ass.
193.10:796-804 | 1965 |
| (27) | Kligman, A.M. | Dimethyl sulfoxide
Part 2, J. Amer. Med. Ass.
193,11:923-928 | 1965 |

- (28) Kolb, K.H.
Jänicke, G.u.a.
Das Verhalten von ^{35}S
markiertem Dimethylsulfoxyd
im menschlichen und
tierischen Organismus.
Arzneimittelforsch.
15, 11: 1292-1295 1965
- (29) Krizek, T.J.
u. Davis, J.H.
Bacteriostatic qualities
of dimethyl sulfoxide.
Surgical Science Club
Midwest Section
S. 349 1964
- (30) Kuschinsky, G.
Dimethylsulfoxyd ein
Wundermittel?
Dtsch.med.Wschr.
90, 45: 2029-2030 1965
- (31) Leake, Ch.D.
Dimethyl sulfoxide
Science 152,
3729: 1646-1649 1966
- (32) Lehn, F.
Progress in the study
of rheumatic diseases
new drug.
J.med.Ass.Alabama
35: 21-24 1965
- (33) Mallach, H.J.
Etzler, K.
Tierexperimentelle Unter-
suchungen über die gemein-
same Wirkung von Dimethyl-
sulfoxyd und Äthylalkohol.
Arzneimittelforsch.
15, 11: 1305-1308 1965
- (34)
Medizinische Mitteilungen
zur Pharmakologie u. Klinik
des DMSO (Bericht über ein
Kolloquium)
Med. Mitt. Schering
26, 3: 2-4 1965

- (35) Nichols, H.M.u.
Jacob, St.W. Drug helpful for arthritis and injuries (20 th Annual Meeting of the American Society for Surgery of the Hand)
Medical Tribune
6,12:1 u. 6 1965
- (36) Preziosi, P.u.
Scapagnini Action of dimethylsulfoxide on the acute inflammatory reactions.
Curr. Therap. Res.
8,5:265 1966
- (37) Pyle, H.M.
Boyer, H. Preservation of human marrow in dimethylsulfoxide
Blood
19,4:522 1962
- (38) Rosenbaum, E.E.
Herrschler, R.J.
Jacob, St.W. Dimethyl sulfoxide in muskuloskeletal disorders.
J.Amer.med.Ass.
192,4:309 1965
- (39) Rosenbaum, E.E.
Jacob, St.W. Dimethyl sulfoxide in the treatment of osteoarthritis, rheumatoid arthritis and gout.
(American Rheumatism Associations, Proccedings of the Annual Meeting, 18.-19.6.1964 San Francisco)
Arthritis a. Rheumatism
7:340 1964
- (40) Rosenkrantz, H.
Hadidian, Z.
Seay, H.
Mason, M.M. Dimethyl sulfoxide: its steroid solubility and endocrinilologic and pharmacologic-toxicologic characteristics.
Cancer Chemotherap.Reports
Nr.31:7 1963

- (41) Roulet, F. Methoden der patholog. Histologie.
Wien, Springer Verlag 1948
- (42) Row, A.W. Low temperature preservation
Kaczmarek, C.S. of leukocytes on dimethyl
Cohn, E. sulfoxide.
Fed.Proc. 22:170 1963
- (43) Scherbel, A.L. Skleroderma yields to
the dimethyl sulfoxide
Med.Trib. (New York)
6,54:20 1965
- (44) Schering, A.G. Dolicur-das neuartige
Berlin Analgeticum u. Antiphlogis-
tikum zur Penetrations-
therapie.
Chir.prax.
9,11:652-653 1965
- (45) Schering A.G. DMSO-Symposium
Berlin 1965
Saladruck 1965
- (46) Schrek, K. Effect of heat a. dimethyl
sulfoxide on normal and
leukaemic Lymphocytes
The Lancet 7420:
1020-1021 1965/II
- (47) Sommer, S. u. Toxikolog. Untersuchungen
Tauberg, G. mit Dimethylsulfoxyd.
Arzneimittelforsch.
14,9:1050 1964
- (48) Stoughton, R.B. Dimethylsulfoxide (DMSO)
induction of a steroid
reservoir in human skin.
Arch. Derm. 91:57 1965

- (49) The story of DMSO
J.A.M.A. 192 no.4,320 1965
- (50) Conference on biological
actions of Dimethyl Sulfoxid
Science Vol. 152
1646-1649 1966

Zu großer Dankbarkeit bin ich Herrn Professor
Dr. med. F. Stein sowohl für die Überlassung
des Themas als auch für seine Unterstützung
und Anleitung bei der Abfassung dieser
Dissertationsschrift verpflichtet.

L e b e n s l a u f

Am 20.5.1936 wurde ich als Tochter des Arztes Dr. med. Gustav Bastian und seiner Ehefrau Katharina, geb. Dillmann, in Frankfurt/Main geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule wechselte ich 1947 auf das Realgymnasium der Anna-Schmidt-Schule in Frankfurt/Main über, wo ich im Jahre 1956 das Abitur ablegte.

Im Frühjahr 1956 immatrikulierte ich mich für das Fach Medizin an der Universität Heidelberg. Im Sommer 1959 begann ich an der Universität Würzburg Zahnmedizin zu studieren. Ein Semester später wechselte ich zur Freien Universität Berlin und legte dort 1961 die zahnärztliche Vorprüfung ab.

Das zahnmedizinische Staatsexamen bestand ich im Jahre 1964. Seit diesem Zeitpunkt bin ich als Zahnärztin tätig.

